

Aus der Kinderklinik mit Poliklinik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. med. A. Windorfer

FREQUENZANALYSE
FÜR DEN GALAKTOSE-1-PHOSPHAT-
URIDYL-TRANSFERASE-DEFEKT IN
EINEM WESTUNGARISCHEN GEBIET
(Torony)

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
dem Fachgebiet Medizin
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Jochen Hans Eggert
aus Lichtenfels

1976
—

1977 # 23

Aus der Kinderklinik mit Poliklinik
der Universität Erlangen - Nürnberg
Direktor: Professor Dr. med. A. Windorfer

FREQUENZANALYSE
FÜR DEN GALAKTOSE-1-PHOSPHAT-
URIDYL-TRANSFERASE-DEFEKT IN
EINEM WESTUNGARISCHEN GEBIET
(Torony)



Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
dem Fachgebiet Medizin
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt von
Jochen Hans Eggert
aus Lichtenfels

Gedruckt mit Erlaubnis des Fachbereichs Medizin
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan : Prof. Dr. E. R ü g h e i m e r
Referent : Prof. Dr. F.C. S i t z m a n n
Korreferent : Prof. Dr. A. W i n d o r f e r

Tag der mündlichen Prüfung: 23. Dezember 1976

GLIEDERUNG

	Seite
A. Einleitung	1
1. Überblick über den Stoffwechsel der Galaktose und dessen Störungen	1
2. Krankheitsbild der Galaktosämie und dessen Bedeutung	5
B. Eigene Untersuchungen	8
1. Fragestellung	8
2. Probandengut	9
3. Methode zur Bestimmung der Gal-1-PUT- Aktivität	9
I. Untersuchungsgang	11
II. Stabilität des Enzyms und Reproduzierbar- keit der Messungen	17
4. Ergebnisse	20
I. Normalwerte in den einzelnen Altersgruppen	20
II. Verteilung der Aktivitätswerte der Gal-1-PUT ...	23
III. Ergebnisse bei Kataraktpatienten und Zwillingen .	26
IV. Genfrequenzberechnungen	28
C. Diskussion	31
D. Zusammenfassung	36
E. Literaturverzeichnis	38



Digitized by the Internet Archive
in 2026

EINLEITUNG

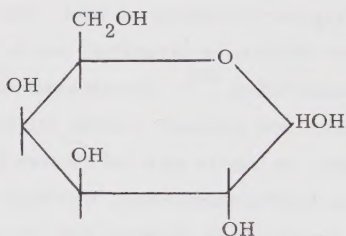
- 1) Überblick über den Stoffwechsel der Galaktose und dessen Störungen

Die Galaktosämie stellt eine Anomalie des Milchzuckerstoffwechsels dar mit Anstieg der Galaktose im Blut. Das klinische Erscheinungsbild dieser Stoffwechselkrankheit wurde erstmals 1908 von A. Reuss beschrieben³⁶⁾. Durch ausführliche Untersuchungen von Komrower und Schwarz wurden die schon früher geäußerten Vermutungen, es handle sich bei diesem Krankheitsbild um ein hereditäres Stoffwechselleiden, bestätigt. Im Jahre 1956 wurde durch die Arbeiten von Kalckar und Mitarbeitern der zugrundeliegende Enzymdefekt verifiziert²³⁾. Bei der klassischen Form der Galaktosämie fehlt ein bestimmtes Enzym des Galaktosestoffwechsels, nämlich die Galaktose-1-Phosphat-Uridyl-Transferase (Gal-1-PUT, E.C. 2. 7. 7. 12) oder ist in seiner Aktivität zumindest soweit herabgesetzt, daß es mit den üblichen Methoden nicht nachzuweisen ist.

Bei der Galaktosämie ist damit ebenso wie beim Galaktokinase-mangel der intermediäre Stoffwechsel gestört. Galaktose wird dabei normal resorbiert, kann jedoch intrazellulär nicht oder nur unvollständig oder auf einem induzierten Umweg metabolisiert werden. Das Leiden wird autosomal rezessiv vererbt; man findet bei Eltern der Patienten ungefähr die Hälfte der Enzym-Aktivität von Homozygot-Gesunden³⁸⁾. Die Symptome der Erkrankung entwickeln sich schon kurz nach der Geburt und stehen im ursächlichen Zusammenhang mit der Milchernährung, die ja Laktose und damit Galaktose enthält. Die Patienten mit diesem Enzymdefekt akkumulieren, wenn sie galaktosehaltige Nahrung aufnehmen, Galaktose-1-phosphat, das in hoher Konzentration

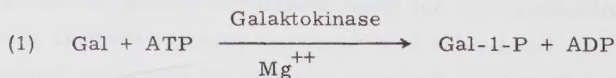
toxisch wirkt ¹⁰⁾. Die Erklärung hierfür ergibt sich aus dem Abbauweg der Galaktose (siehe Abb. 1).

Die Galaktose ist die 4-stereoisomere Form der D-Glukose mit folgender Strukturformel:

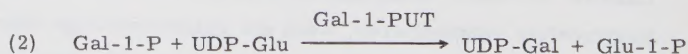


In freier Form ist sie in der Natur selten, in glykosidischer Form jedoch weit verbreitet, so als Disaccharid in Milchzucker, in Cerebrosiden, in Gangliosiden und in Glykoproteinen ⁹⁾. Im Stoffwechsel wird nun Galaktose reversibel zu Glukose umgebaut. Die Aufklärung dieses Stoffwechselweges ist vor allem Leloir und Mitarbeitern zu verdanken.

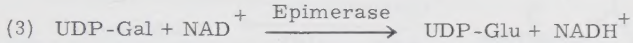
Der 1. Schritt dieser Umwandlung besteht in einer Phosphorylierung der Galaktose durch ATP unter Anwesenheit von Mg^{++} .



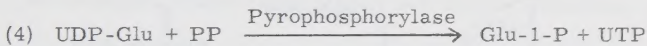
Im nächsten Schritt wird nun Uridin-Diphosphat durch das Ferment Uridyltransferase von der Glukose zur Galaktose übertragen.



Schließlich wird die UDP-Galaktose unter der Einwirkung einer Epimerase, UDP-Gal-4-Epimerase und NAD zu UDP-Glukose umgewandelt.



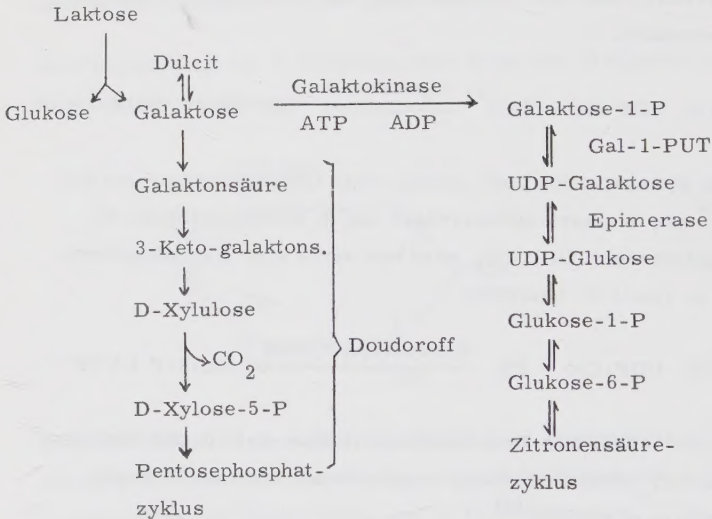
Diese Epimerisation läuft mittels einer Oxydoreduktase und mit NAD^+ als Wasserstoffüberträger am 4. Kohlenstoffatom ab. Die entstandene UDP-Glu wird nun durch eine Pyrophosphorylase in Glu-1-P überführt.



Glukose-1-phosphat kann nun über Glukose-6-P in den Embden-Meyerhoff -Stoffwechselweg eingeschleust oder zu Glykogen synthetisiert werden ¹³⁾.

Dieser Leloir-Stoffwechsel soll noch einmal im Schema dargestellt werden:

Abbildung 1:



Das Galaktosestoffwechselschema zeigt neben dem besprochenen Leloirabbauweg auch den Umgehungsstoffwechsel, der von de Ley und Doudoroff erstmals beschrieben wurde ²⁴⁾.

Folgende Enzyme sind also am Umbau der Galaktose beteiligt:

- a) Galaktokinase (E.C. 2.7.1.6.) = ATP : D-Galaktose-1-phosphattransferase

Diese Kinase ermöglicht die Phosphorylierung der Galaktose.

- b) Galaktose-1-phosphat-uridyltransferase (E.C. 2.7.7.12)
= UDP-Glukose: α-D-Galaktose-uridyltransferase

Das Enzym wurde erstmals von Leloir 1951 in Hefezellen nachgewiesen. Es ermöglicht die Übertragung von Uridindiphosphat von

der Glukose zur Galaktose. Nach den Untersuchungen von Kurahashi liegt die Gleichgewichtskonstante bei 1 und hat das Ferment einen absoluten Bedarf an Cystein. Mg^{++} hemmt die Reaktion ³¹⁾.

c) UDP-Gal-4-Epimerase (E.C. 5.1.3.2.)

Sie ermöglicht die reversible Umwandlung von Galaktose in Glukose.

d) UDP-Glukose-Pyrophosphorylase (E.C. 2.7.7.9.)

Durch dieses Enzym wird die UDP-Glukose in Glukose-1-P überführt.

2) Krankheitsbild der Galaktosämie und dessen Bedeutung

a) Pathophysiologie:

Beim Mangel an Gal-1-PUT kommt es zu einer Anreicherung von Galaktose, Galaktose-1-phosphat, einem intermediären Stoffwechselprodukt des Galaktoseabbaus, und Galaktitol, der Alkoholverbindung der Galaktose (= Dulcit), in Leber, Niere, Gehirn, Erythrozyten und Augenlinse. Dadurch werden Zellatmung und Transaminierungsvorgänge gehemmt ⁴²⁾.

b) Noxe:

Die toxische Verbindung, welche die Schäden hervorruft, ist nach neueren Untersuchungen wahrscheinlich Galaktitol. So stellte Quan-Ma, vor allem aber Kinoshita und Mitarbeiter, fest, daß in vielen Geweben, besonders in der Linse, im Gehirn, im Skelett- und Herzmuskel, Galaktitol angehäuft wird, da infolge des Enzymdefektes Galaktose und Gal-1-P nicht zu UDP-Gal umgebaut werden, sondern durch das Enzym Aldosereduktase zu Galaktitol oxidiert werden. Letzteres Enzym ist vor allem in der Linse in hoher Aktivität vorhanden.

Weiterhin kann die bei Galaktosezufuhr auftretende Hypoglykämie

als Noxe, besonders für das Gehirn, angesehen werden. Die Mangelversorgung mit Glukose entsteht dadurch, daß Gal-1-P, welches sich beim Gal-1-PUT -Mangel anstaut, die Phosphoglukomutase und damit auch die Glukoseverwertung hemmt²⁶⁾.

c) Symptome:

Die klinischen Symptome treten auf, sobald Milch mit der Nahrung zugeführt wird. Homozygotkranke Kinder, die mit Laktose ernährt werden, zeigen in den ersten Lebenstagen eine meist intensive Gelbsucht, trinken nicht, sind inappetent, erbrechen häufig und weisen ein geblähtes Abdomen und eine Hypotonie auf. Weitere Symptome sind: Gedeihstörungen, Trinkunlust, starker, zur Dystrophie führender Gewichtsverlust, Durchfälle, cerebrale Krämpfe. Schließlich entstehen eine Lebercirrhose, Katarakte und geistige Retardierung, falls die Neugeborenen nicht schon vorher versterben, vor allem bei den foudroyanten Verlaufsformen. Nach Absetzen der Milch in der Nahrung verschwinden die Symptome meist sofort²⁵⁾.

d) Umgehungsstoffwechsel im Alter:

Dennoch vertragen einige homozygot Kranke im fortgeschrittenen Alter Galaktose, weil ein Umgehungsabbauweg des sonst normalen Leloirstoffwechsels induziert wurde. Von Cuatrecasas und Segal wurde der bereits genannte Doudoroff - Weg auch beim Menschen nachgewiesen¹²⁾.

Eine weitere Erklärung vermutete Isselbacher. Er glaubt, daß ältere Patienten mit Galaktosämie Galaktose deswegen vertragen, weil die Aktivität der UDP-Gal-Pyrophosphorylase zunimmt²²⁾.

Die Kenntnisse über das Krankheitsbild der Galaktosämie sind deswegen von großer Bedeutung, weil Galaktose die wichtigste Energiequelle für das Neugeborene darstellt. So werden 20 %

des gesamten Kalorienbedarfs bei Säuglingen durch Galaktose gedeckt ⁴²⁾. Die Prognose der Erkrankung hängt nun im wesentlichen vom Zeitpunkt des Therapiebeginns ab.

Ziel der Therapie muß es also sein, möglichst bald eine galaktosefreie Kost zu verabreichen. Bei gut eingestellter Diät treten angeblich keine Schäden auf, wie Holzel bei Beobachtungen an 5 Kindern nach 10 Jahren feststellen konnte. Als Fertignahrung stehen z.B. Lactopriv, Sojabasan, Nutramigen und Solactin u. a. zur Verfügung, die alle auf Sojabasis aufgebaut sind.

Ist in einer Familie schon ein Kind an Galaktosämie erkrankt, sollte bei folgenden Schwangerschaften eine entsprechende Prophylaxe eingeleitet werden. Die Mutter muß sich während der Schwangerschaftsmonate unter allen Umständen milchfrei ernähren. In seltenen Fällen kann sich nämlich trotz frühzeitiger Diagnose und Therapie eine cerebrale Schädigung manifestieren, die bereits intrauterin durch Milchaufnahme der heterozygoten Mutter eintritt. Diese Vermutung belegen auch Kaloud und Sitzmann durch ein von ihnen beobachtetes galaktosämisches Kind ²⁴⁾. Auch konnte im Tierexperiment bewiesen werden, daß durch transplazentare Galaktosepassage Hirnschädigungen und Katarakte erzeugt werden können. Gelegentlich konnte sogar Galaktose im Fruchtwasser nachgewiesen werden, das durch die geschädigte Niere des bereits erkrankten Feten ausgeschieden wurde ⁴⁰⁾. Aus den genannten Gründen sollte auch bei jedem Verdacht auf das Vorliegen einer Galaktosämie prophylaktisch milchfrei ernährt werden.

B. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1. Fragestellung

Die Untersuchungen wurden mit 2 Fragestellungen vorgenommen:

I) Erstellung der Genfrequenz für den Gal-1-PUT -Defekt bei Zigeunern und Halbzigeunern.

Für das Enzym Galaktokinase wurde von Gitzelmann bereits 1965 dieser Enzymdefekt wiederholt bei Zigeunern beschrieben ¹⁵⁾.

Da die Möglichkeit besteht, auf Grund der quantitativen Gal-1-PUT -Bestimmung im Hämolysat auch Heterozygote zu erfassen, die nur 50 % der normalen Aktivität aufweisen, kann aus diesen Ergebnissen auf die Genfrequenz geschlossen werden. Aus früheren Untersuchungen geht hervor, daß dieser Test zur Auffindung Heterozygoter geeignet ist.

II) Bei dem zu untersuchenden Probandengut handelt es sich um eine relativ homogene Bevölkerungsschicht von Torony im Komitat Vas, wo in den vergangenen drei Jahrzehnten Zigeuner und Halbzigeuner sesshaft wurden. Selbst wenn der Gal-1-PUT -Defekt bei dieser Rasse nicht gehäuft vorkäme, könnte mit den Untersuchungen die Frage beantwortet werden, ob ein derartiges heterogenes Gen bei der großen Stabilität dieser Rasse häufiger vererbt wird und sich dadurch unterschiedliche Genfrequenzen im Vergleich zur angrenzenden Steiermark/Österreich oder gar zu unserem Gebiet in Franken ergeben.

Beide Fragestellungen sollten mit dieser Untersuchung beantwortet werden : bisher liegen darüber keine Ergebnisse vor.

2. Probandengut

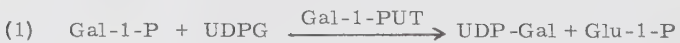
Insgesamt wurden die Blutproben von 1171 Probanden, die im Zeitraum vom 6.9.1973 bis 18.2.1974 in Torony/Vas abgenommen wurden, ausgewertet. Zu den Spendern gehörten neben den wenigen ortsansässigen Bewohnern vor allem reinrassige Zigeuner und Halbzeiguner. Daneben wurden auch Zwillingspaare, Frühgeborene und geistig Retardierte dieses Gebietes erfaßt. Frühgeborene und geistig Retardierte blieben aber bei der frequenzanalytischen Auswertung unberücksichtigt, da ja geistige Retardierung schon als Symptom der Galaktosämie angesehen werden muß, und aus diesem Grunde die Einbeziehung dieser Probanden das Genfrequenzbild hätte verfälschen können, wenn Heterozygotenwerte für Gal-PUT gefunden worden wären. Die untersuchten Zwillinge wurden ebenfalls gesondert betrachtet. Auf eine Geschlechtsaufteilung wurde verzichtet, da aus früheren Untersuchungen bekannt ist, daß eine geschlechtsspezifische Enzymaktivität der Gal-1-PUT im Hämolysat nicht vorliegt²⁸⁾.

3. Methode zur Bestimmung der Gal-1-PUT -Aktivität im Erythrozytenhämolysat

Zum Nachweis des Enzymdefektes sind verschiedene Methoden entwickelt worden. Hier seien nur einige genannt:

- a) Der von Beutler und Mitarbeitern erarbeitete Screening-test³³⁾. Dieser Test ermöglicht auch den direkten Nachweis der Gal-1-PUT im Nabelschnurblut.
- b) Isotopenmethodik mit C¹⁴-1-Galaktose.
- c) Gasometrische Methoden.
- d) Photometrische Methoden.

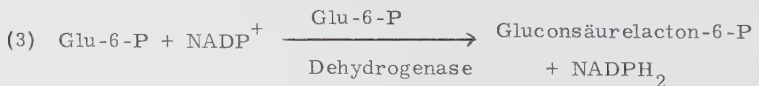
Von allen enzymatischen Methoden hat sich der UDP-Glukose - Konsumptionstest am besten bewährt, der auch bei den folgenden Untersuchungen angewandt wurde. Der Test zur Bestimmung der Gal-1-PUT -Aktivität basiert auf dem UDPG-Konsumptionstest, der ursprünglich von Anderson und Mitarbeitern angegeben wurde ¹⁾. Dann wurde die Methode von Beutler so modifiziert, daß damit auch heterozygote Anomalieträger erfaßt werden können ⁴⁾. "Das Prinzip der Methode beruht auf der Bestimmung von UDP - Glukose vor und nach einer halbstündigen Inkubation eines Erythrozytenhämolysates mit UDP-Glukose und Galaktose-1-P. Die Differenz der UDP-Glukosekonzentration, d.h. die in der Zeiteinheit verbrauchte Menge von UDP-Glukose, gilt als Maß für die Aktivität der Uridyltransferase." ³⁰⁾ Das Reaktionsprinzip besteht darin, daß Galaktose-1-P und UDPG umgewandelt werden zu UDP-Gal und Glukose-1-P .



Diese wiederum wird durch eine Phosphoglucomutase in Glukose-6-P überführt.



Gibt man nun zu Glukose-6-phosphat und NADP^+ das Ferment Glukose-6-P-dehydrogenase, entsteht neben 6-Phosphoglukonsäure NADPH_2 dadurch meßbare Extinktionsänderung.



Sind Substrat sowie Indikator- und Hilfsenzyme im Überschuß vorhanden, ist die zeitliche Zunahme der NADPH -Extinktion der

Aktivität der Uridyltransferase proportional.

Im folgenden Abschnitt soll eine detaillierte Ausführung dieser Methode gegeben werden:

I. Untersuchungsgang

Herstellung des Hämolsates:

Die Aktivität der Gal-1-PUT wurde im Erythrozytenhämolsat bestimmt. 2,0 ml venösen Blutes wurden nach der Entnahme mit 0,5 ml ACD-Stabilisator versetzt und gemischt. Der Stabilisator hatte folgende Zusammensetzung: 4,7 g Zitronensäure

16,0 g Trinatriumzitat

25,0 g Glukose

Aqua dest. ad 1000 ml

In dieser Form wurden die Blutproben versandt.

0,5 ml des Blutes versetzt man mit ungefähr 5 ml physiologischer Kochsalzlösung und zentrifugiert 5 Min. bei 2 - 3000 U/min. Der erhaltene Überstand wird vorsichtig abgesaugt. Diesen Vorgang wiederholt man noch 2-3 mal, wobei die Erythrozyten jedesmal sorgfältig vom Überstand befreit werden. Die nun sorgfältig gewaschenen Erythrozyten werden mit 0,65 ml Aqua bidest. versetzt, dadurch hämolysiert und für 45 Minuten zur Verstärkung der Hämolysen bei mindestens -20°C tiefgekühlt. Anschließend werden die Proben langsam aufgetaut und ungefähr 5 Minuten zentrifugiert. Das gewonnene Hämolsat wird abgesondert.

Hämoglobinbestimmung:

Von dem so erhaltenen Hämolsat wird der Hämoglobingehalt nach der modifizierten Drabkinschen Methode bestimmt ³⁷⁾. Dazu verwendet man eine Transformationslösung mit folgender Zusammensetzung: 1,0 g Na-hydrogencarbonat, 0,2 g K-ferrocyanid, 0,05 g K-cyanid, Aqua bidest. ad 1000 ml.

Hb - Bestimmung:

5,0 ml Transformationslösung werden in ein Reagenzglas pipetiert. Zu dieser Lösung gibt man 0,05 ml HämolySAT, mischt sorgfältig und mißt nach frühestens 5 Minuten die Extinktion im Eppendorff-Photometer mit Makroküvette ($d = 1 \text{ cm}$) und großer Blende. Die Messung erfolgt gegen Wasser bei einer Wellenlänge von 546 nm . Die Berechnung erfolgt mit Hilfe des Extinktionskoeffizienten von $\text{Hb} = 11\,000$ und dem Molekulargewicht $\text{MG} = 16\,114$. Die abgelesene Extinktion wird mit dem Faktor $0,148$ multipliziert.

$$\text{Ext.} \times 0,148 = \text{gHb/ml}.$$

Aktivitätsbestimmung der Gal-1-PUT :

Die Aktivität des Enzyms wurde nach der Vorschrift der Fa. Sigma Chemical Company unter besonderer Berücksichtigung des modifizierten UDPG-Konsumptionstestes nach Beutler bestimmt und folgende Lösungen verwendet:

Glycinpuffer, $1,0 \text{ M}$, $\text{pH } 8,7$ (Sigma)

UDPG-Na-salz, (Sigma). Die gebrauchsfertige Lösung wird zubereitet, indem man 25 mg in 5 ml Aqua bidest. löst.

Galaktose-1-P, (Sigma). Hiervon werden 30 mg in 10 ml Aqua bidest. gelöst.

NAD (Boehringer). Um die gebrauchsfertige Lösung zu erhalten, gibt man 500 mg in 30 ml Aq. bidest. , bringt den Ansatz mit $0,2 \text{ n NaOH}$ auf $\text{pH } 7$, füllt mit Aq. bidest. auf 50 ml auf.

UDPG-Dehydrogenase, (Sigma)

UDPG-Glycinmischung. Diese Lösung wurde täglich frisch angesetzt, indem man $0,2 \text{ ml}$ Glycinpuffer mit $0,05 \text{ ml}$ UDPG-Lösung mischt.

Von dieser UDPG-Glycinmischung füllt man je 0,1 ml in ein konisches Pyrex-Zentrifugengefäß; dazu werden 0,05 ml der Gal-1-P -Lösung pipettiert. In das 2. Zentrifugenröhrchen gibt man die gleiche Menge Wasser. Zu jedem der Ansätze pipettiert man nun 0,1 ml Hämolytat mit einer Eppendorffpipette (100 µl). Man erhält also zwei Reaktionssysteme:

- (1) 0,1 ml UDPG-Glycin + 0,05 ml Gal-1-P + 0,1 ml Hämolytat
- (2) 0,1 ml UDPG-Glycin + 0,05 ml Aq. dest. + 0,1 ml Hämolytat

Diese Ansätze werden exakt 15 Minuten (Stoppuhr) im Wasserbad bei 37°C inkubiert.

Dabei spielt sich folgende Reaktion ab:



Nach genau 15 Minuten werden die Ansätze aus dem Wasserbad genommen, zu jedem Zentrifugengefäß 0,5 ml eiskaltes Wasser gegeben und für 2 Minuten in kochendes Wasser gestellt. Die Reaktion wird so durch Enteiweißung unterbrochen. Anschließend werden die Röhrchen im Eisbad ungefähr 10 Minuten lang abgekühlt. Nach dem Umfüllen der Lösungen in Plastikröhrchen und anschließendem 5-minütigem Zentrifugieren in der Mikrozentrifuge erhält man einen klaren Überstand, den man vom restlichen Koagulum abhebt. Um nun die restliche Menge an noch nicht verbrauchtem UDPG zu bestimmen, die im Überstand nach der 15-minütigen Inkubation, also dem Einwirken der Uridyltransferase, verblieben ist, verfährt man so:

In je zwei Plastikröhrchen pipettiert man folgende Lösungen:

- 1. 0,2 ml Überstand aus Röhrchen 1 + 0,15 ml Glycinpuffer
+ 0,1 ml NAD + 0,45 ml Aq. bidest.;

2. 0,2 ml Überstand aus Röhrchen 2 + 0,15 ml Glycinpuffer
+ 0,1 ml NAD + 0,45 ml Aq. bidest.

Der Überstand des 1. Röhrchens entstammt dem Ansatz, der Gal-1-P enthielt, der des 2. Röhrchens dem Ansatz, der Wasser enthielt. Die verbliebene Menge an UDP-Glukose wird nun im optischen Test mit Hilfe der UDPG-Dehydrogenase und NAD nach folgendem Prinzip bestimmt:



Bei dieser Reaktion wird NAD zu NADH reduziert und somit eine Extinktionsänderung erzielt, da NADH^+ im Gegensatz zu NAD^+ eine hohe Absorption bei der Wellenlänge 340 nm bzw. 366 nm besitzt.

Im Überblick stellt sich der Reaktionsverlauf so dar:

Während der Inkubationsperiode wird durch die Aktivität der vorhandenen Gal-1-PUT die UDP-Glukose in UDP-Galaktose umgesetzt. Nach 15 Minuten wird die Uridyltransferase durch Kochen zerstört. Die verbliebene Menge an UDP-Glukose wird durch Zusatz von UDPG-Dehydrogenase und NAD^+ gemessen, wobei eine Reduktion von NAD^+ zu NADH^+ eintritt. Wenn die verbliebene Menge an UDPG der ursprünglich vorhandenen entspricht, zeigt dies den Defekt der Gal-1-PUT an. Entsprechend kann eine nur geringe Aktivität auf einen Mangel an Gal-1-PUT hinweisen.

Zur Messung der Reaktionen werden beiden Ansätzen jeweils 0,1 ml UDPG-Dehydrogenase zugesetzt.

Die Messung selbst erfolgt nach folgendem Rhythmus:

Stoppuhr starten: -

Zu Probe 1 0,1 ml UDPG-Dehydrogenase geben

nach 15 sec - zu Probe 2 0,1 ml UDPG-Dehydrogenase geben

nach 30 sec - Probe 1 in die Halbmikroküvette gießen

nach 45 sec - Probe 2 in die Halbmikroküvette gießen

nach 60 sec - Extinktion in Probe 1 ablesen

nach 75 sec - Extinktion in Probe 2 ablesen

Gemessen wurde im Eppendorff-Spektrallinienphotometer mit großem Tubus, mit mittlerer Blende und UV-Filter von 366 nm in Halbmikroküvetten (37°C) von 1 cm Schichtdicke. Der Nullpunkt wird gegen Luft eingestellt. In dieser Anordnung wird nun wie oben beschrieben die Anfangsextinktion und nach 30-40 Minuten die Endpunktsextinktion abgelesen. Die Extinktionsänderung geht in die Berechnung ein.

Berechnung:

Die Aktivität der Gal-1-PUT im Erythrozytenhämolysat wird in Einheiten (Units) ausgedrückt. Bezugssystem ist der Hämoglobingehalt des Hämolysates. Eine Einheit ist nach Beutler "die Enzymmenge, die in 1 Stunde bei 37°C den Umsatz von 1 µMol UDPG verursacht." ³⁴⁾

Die Aktivität, ausgedrückt in µMol UDPG/mg Hb wird nach folgender Formel berechnet:

$$U = \frac{E_1 - E_2}{g \text{ Hb/ml}} \times 12,9$$

Dabei gilt: U = Betrag der Einheiten der Enzymaktivität pro g Hb

E_1 = Extinktionsänderung der 1. Küvette,
d. h. des Leerwertes

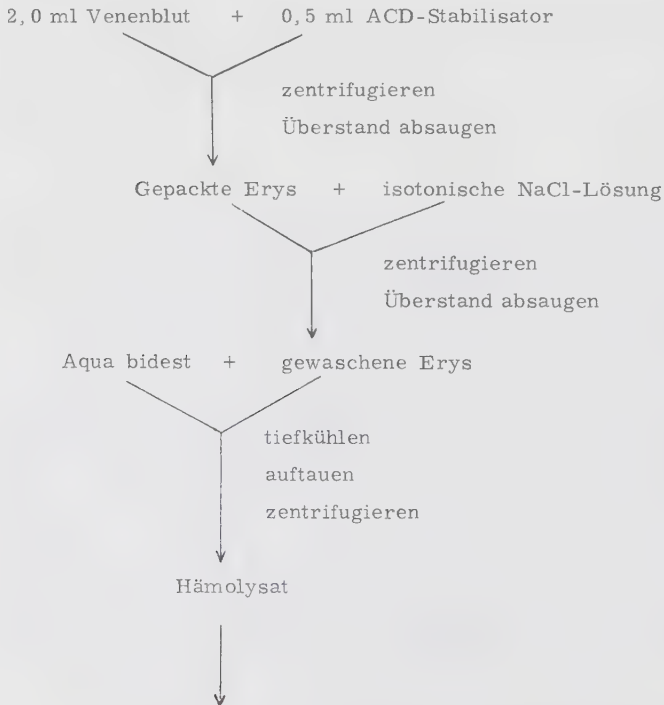
E_2 = Extinktionsänderung der 2. Küvette,
d. h. des Reaktionssystems

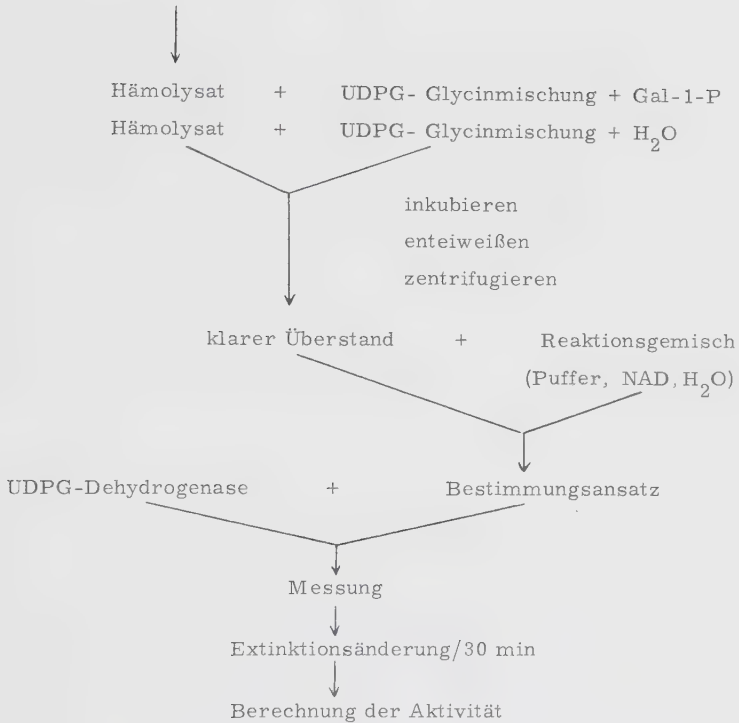
Die Extinktionsänderung wird errechnet, indem man die Anfangs-extinktion E_1 , also diejenige, die nach 1 Minute abgelesen wurde, von der Endpunktsextinktion E_1' , derjenigen, die nach 30 Minuten abgelesen wurde, als sämtliches UDPG verbraucht war, subtrahiert. Analoges gilt für E_2 .

Übersicht:

Der gesamte Untersuchungsgang stellt sich nun im Schema so dar:

Abbildung 2:



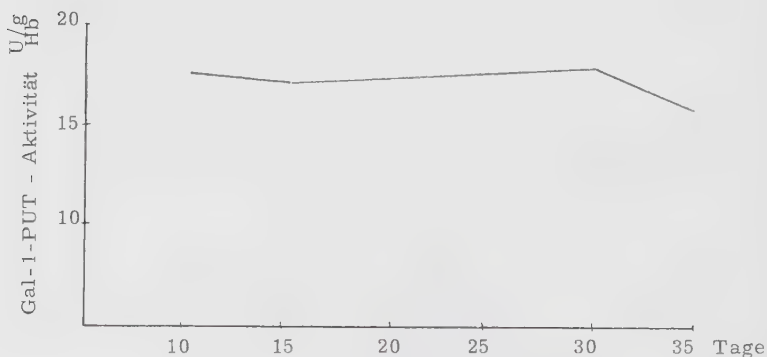


II. Stabilität des Enzyms und Reproduzierbarkeit der Messungen

Da die Blutproben von Ungarn mit der Post per express nach Erlangen befördert wurden, war es wichtig, die Halbarkeit des Enzyms zu berücksichtigen. Orlia und Mayer konnten zeigen, daß die Aktivität aller gemessenen Enzyme auch unter Aufbewahrung bei Zimmertemperatur für 48 Stunden konstant bleibt ³⁴⁾. Beutler erkannte dann die ausgesprochen hohe Stabilität der Gal-1-PUT. Blut, nicht Hämolysat, das in ADC-Lösung bei 4°C auf-

bewahrt wird, zeigt, nach Versuchen von Beutler, über 4 Wochen hinweg eine unveränderte Enzymaktivität ⁴⁾. Auch bei Zimmertemperatur gelagerte Proben wiesen über wenigstens 14 Tage hinweg keinen Aktivitätsrückgang der Gal-1-PUT auf. Die Graphik, die sich auf Beutlers Messungen bezieht, zeigt die Stabilität der Uridyltransferase über 35 Tage ⁴⁾.

Abbildung 3 :



Auch Hämolysat oder tiefgefrorene, gepackte Erythrozyten zeigen nur einen geringen Aktivitätsabfall bei Lagerung bis zu 7 Tagen. Einen weiteren Beweis der Stabilität des Enzyms lieferte Beutler mit folgender Untersuchung, bei der er Aktivitätsmessungen unmittelbar nach der Blutentnahme, nach 2 und nach 7 Tagen durchführte. Einen Aktivitätsabfall konnte er praktisch nicht finden. Die ermittelten Werte zeigen Tabelle I.

Tabelle I:

	Lager- temperatur	Dauer d. Lagerung		
		0	2	7 Tage
ACD-Blut	+ 4°C	20,6	22,7	20,9 U
Gepackte Erys	- 25°C		21,2	17,9 U
1:1 Hämolysat	- 25°C		18,6	17,7 U
1:1 Hämolysat	+ 4°C		19,6	18,8 U

Reproduzierbarkeit:

Um die Übereinstimmung der Enzymaktivität in wiederholt untersuchten Proben zu prüfen, führten Beutler und Baluda folgenden Test durch ⁴⁾: Eine Blutentnahme wurde in 6 Proben aufgeteilt und bei jeder einzelnen die Aktivität der Gal-1-PUT gemessen. Die Werte, die man dabei erhielt, schwankten zwischen 17,8 und 20,9 Units. Der Mittelwert betrug 19,4, die Standardabweichung 1,05 Units. Die Schwankungen führt Beutler auf unterschiedliche Gründlichkeit der Reinigung der Erythrozyten, auf Ungenauigkeit der Hämolysatherstellung und auf Imponderabilien bei der Hämoglobinbestimmung zurück. Am stärksten fallen jedoch beim Analysenvorgang technische Fehler ins Gewicht. Hier seien einige Hauptfehlerquellen genannt:

Ablesefehler am Photometer, verunreinigte Küvetten, Meßfehler beim Pipettieren, nicht exakt geeichte Geräte, Fehler im Herstellen von Lösungen und deren pH-Einstellung.

Um die Genauigkeit der Messungen, die hier angewandt wurden, zu kontrollieren, wurden Qualitätskontrollen von Eigenblut am glei-

chen Tag und von Tag zu Tag durchgeführt. Dazu wurden an einem Tag 10 Blutproben einer Blutentnahme sofort und dann 4 Tage hintereinander getestet. Die ermittelten Werte (Mittelwert; Standardabweichung; Maximalwert; Minimalwert; Variationskoeffizient) zeigt Tabelle II.

Tabelle II :

	Mittelwert	Standardabweich.	Max. Wert	Min. Wert	Variationskoeffizient
1. Tag	16,9	1,2	18,2	14,8	7,16
2. Tag	15,5	1,0	16,9	14,2	6,4
3. Tag	15,5	0,9	17,1	14,4	6,3
4. Tag	16,0	1,1	17,8	15,1	6,6

4. Ergebnisse

I. Normalwerte in den einzelnen Altersgruppen

Die Gal-1-PUT -Aktivität der 1171 Spender wurde in 6 Altersgruppen eingeteilt. Zur Auswertung kamen die Ergebnisse bei reinrassigen Zigeunern sowie Halbzigeunern; zum Vergleich dienten Blutspender aus dem Distrikt Vas, in dem Torony liegt. Ein erwähnenswerter Unterschied in der durchschnittlichen Enzymaktivität zwischen Zigeunern und der übrigen Bevölkerungsgruppe konnte nicht festgestellt werden, weshalb auf eine diesbezügliche Aufteilung ebenso verzichtet wurde, wie auf eine Geschlechtsaufteilung.

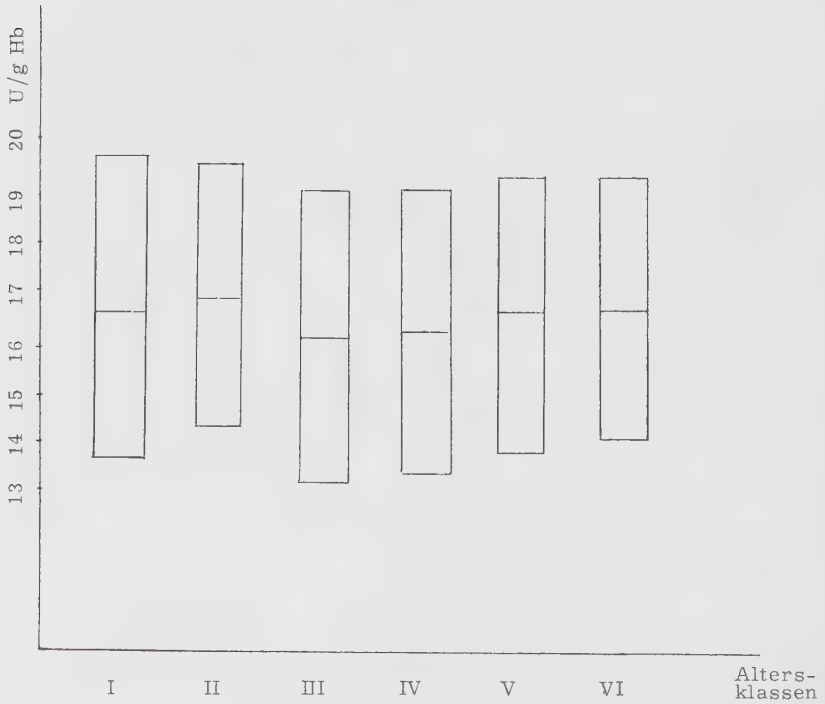
Die Normalwerte der einzelnen Altersstufen zeigt Tabelle III.

Tabelle III:

Klasse	Alter	Mittel- wert	Standard- abw.	Max. Wert	Min. Wert	Vk
I	6-14	16,55	3,05	23,1	12,4	18,5
II	15-20	16,8	2,6	21,7	12,5	15,7
III	21-40	16,1	2,9	22,8	11,8	18,4
IV	41-60	16,2	2,8	25,7	11,8	17,3
V	61-70	16,6	2,8	21,8	12,2	16,9
VI	über 70	16,6	2,6	22,7	12,2	15,7

Abbildung 4:

Diese Verteilung läßt sich graphisch so darstellen:



Aus dem Ergebnis ist ersichtlich, daß keine signifikanten Unterschiede der Gal-1-PUT -Aktivität in diesen 6 Altersstufen bestehen.

II. Verteilung der Aktivitätswerte der Gal-1-PUT

Die einzelnen Gal-1-PUT- Werte der untersuchten Probanden aus Torony wurden auf Normalverteilung geprüft. Dazu wählt man folgendes Vorgehen:

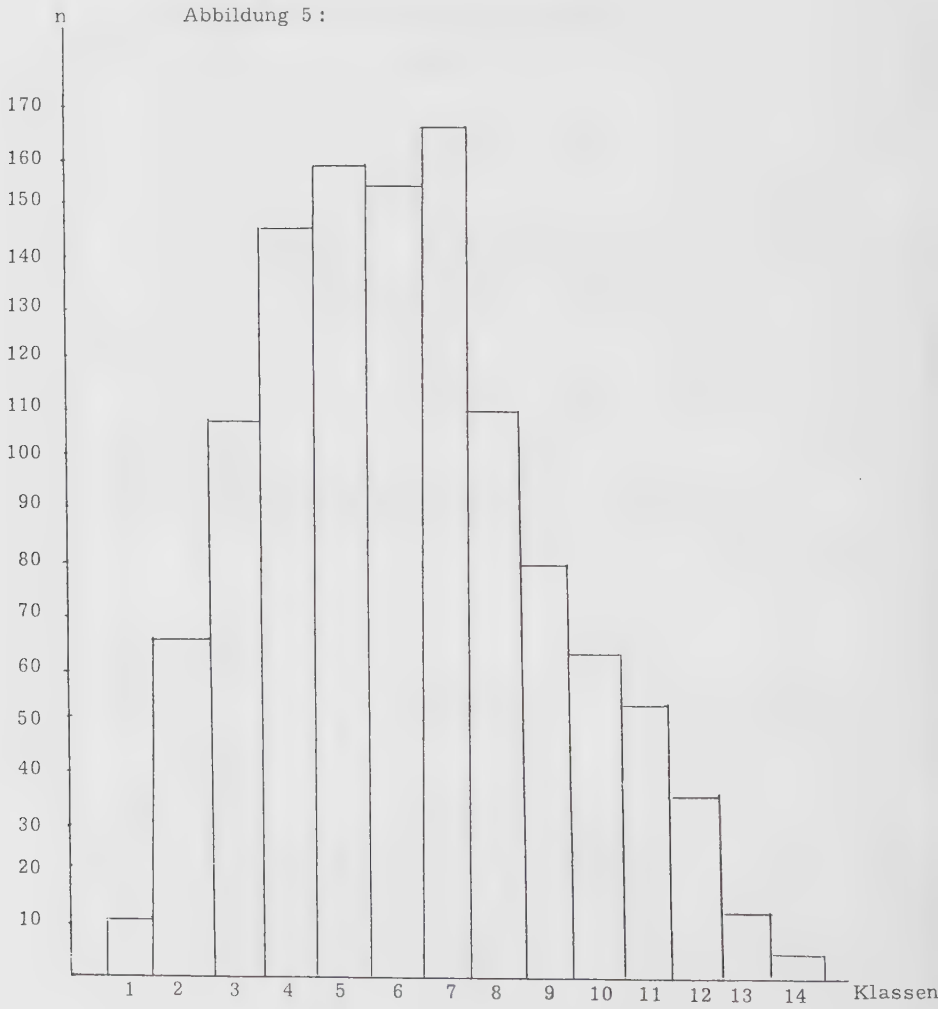
Die Gesamtzahl der ermittelten Aktivitäten wird in 15 Klassen aufgeteilt. Die einzelnen Klassen unterscheiden sich um jeweils 1 U/g Hb, beginnend mit 11,5 U/gHb bis 24,5 U/gHb. Werte unter 11,5 wurden hierbei nicht berücksichtigt, da diese auf heterozygote Merkmalsträger bzw. Duarte-Varianten hindeuten können. Die Klassenwerte wurden dann nach ihrer relativen kumulativen Häufigkeit berechnet.

Die Resultate sind in Tabelle IV angeführt.

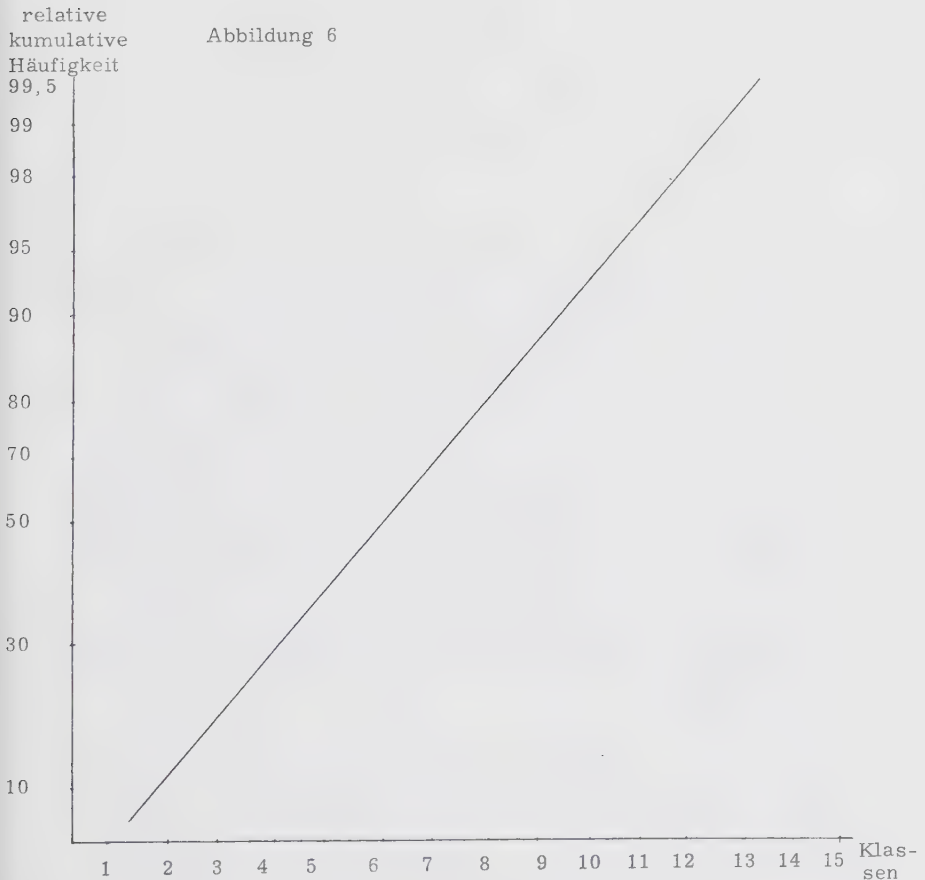
Tabelle IV:

Klasse	Anzahl	kum. Häufigkeit	rel. kum. Häufigkeit
unter 11,5	13	13	0,76 %
12 U	67	76	6,49 %
13 U	109	185	15,8 %
14 U	146	331	28,29 %
15 U	157	488	41,70 %
16 U	152	640	54,70 %
17 U	166	806	68,88 %
18 U	110	916	78,29 %
19 U	80	996	85,12 %
20 U	63	1059	90,51 %
21 U	52	1111	94,95 %
22 U	34	1145	97,86 %
23 U	13	1158	98,97 %
24 U	5	1163	99,49 %
über 24 U	8	1171	100,00 %

Graphisch stellt sich das Histogramm folgendermaßen dar:



Das Histogramm für die einzelnen Gal-1-PUT -Aktivitäten im Hämolysat, aufgeteilt in 15 Klassen, zeigt am ehesten eine Normalverteilung. Sie wurde weiterhin durch Eintragung der relativen kumulativen Häufigkeit auf Wahrscheinlichkeitspapier mit logarithmisch unterteilter Ordinate und linear unterteilter Abszisse überprüft. Bei Normalverteilung der Werte ergibt sich eine Gerade, wie in Abbildung 6 dargestellt.



III. Ergebnisse bei Kataraktpatienten und Zwillingen

Unter den hier untersuchten Probanden waren 3 mit *Cataracta congenita*. Diese Fälle erweckten besondere Aufmerksamkeit, da Katarakte häufig bei der Galaktosämie auftreten. Die 3 Probanden wiesen aber mit den Werten 21,8 U, 16,5 U und 19,7 U eine physiologische Enzymaktivität auf.

12 Zwillingspaare wurden untersucht. Eine erniedrigte Gal-1-PUT -Aktivität wurde in keinem Fall verzeichnet. Neben 8 zweieiigen Zwillingspaaren ließ die Übereinstimmung in den Blutgruppen bei 4 Zwillingspaaren darauf schließen, daß es sich um eineiige Kinder handelt (siehe Tabelle V). Es zeigte sich aber keine vollkommene Übereinstimmung der Enzymaktivitäten, weder bei der Gal-1-PUT noch bei der Galaktokinase, wie man eigentlich erwarten müßte. Während allerdings die Galaktokinaseaktivität in 2 Fällen gut übereinstimmte (Fall 1 und 4), war dies bei der Gal-1-PUT nur einmal der Fall (Fall 3). Die Erklärung ist möglicherweise in der doch relativ großen Streuung der Meßergebnisse der Gal-1-PUT zu suchen. Berücksichtigt man allerdings die Standardabweichung bzw. den Variationskoeffizient in einer Reihenuntersuchung der gleichen Blutproben, so stimmen doch diese Befunde bei Zwillingen gut überein. Die Werte liegen auch alle im Normalbereich und weichen nicht nach unten in den Bereich der Duarte-Varianten und der Heterozygoten ab.

Tabelle V bringt eine Gegenüberstellung der Enzymaktivitäten (Galaktose-1-phosphat-uridylyltransferase; Galaktokinase) und der Blutgruppen.

Tabelle V

Zwillinge	Gal-1-PUT	Stand.- ab- weichg.	Galakto- kinase	Stand.- ab- weichg.	Blutgruppen
Zwilling 1a	17, 8	1, 70	24, 4	0, 49	$A_1 P_1 \cdot MM S s dd cc C^w - ee kk Fy(a+b) Xg(a+)$
Zwilling 1b	15, 4		23, 7		$A_1 P_1 \cdot MM S s dd cc C^w - ee kk Fy(a+b) Xg(a+)$
Zwilling 2a	14, 3	1, 56	18, 8	2, 69	$A_1 MM Cc D. Ee C^w -$
Zwilling 2b	16, 5		22, 6		$A_1 MM Cc D. Ee C^w -$
Zwilling 3a	14, 5	0, 42	28, 1	2, 55	$A_2 MM cc dd ee C^w -$
Zwilling 3b	15, 1		31, 7		$A_2 MM cc dd ee C^w -$
Zwilling 4a	18, 0	1, 70	20, 5	0, 28	$A_{18} MN Cc D. Ee C^w - kk$
Zwilling 4b	15, 6		20, 1		$A_{18} MN Cc D. Ee C^w - kk$

1

2

3

4

IV. Genfrequenzberechnungen

Die Berechnung erfolgt nach der Hardy-Weinberg -Formel²⁾.

$$p = \frac{2 AA + Aa + aa}{2 (AA + Aa + aa)}$$

$$q = \frac{2 aa + Aa}{2 (AA + Aa + aa)}$$

p	= Genhäufigkeit für Gesunde	AA	= Gesund
q	= Genhäufigkeit für Kranke	Aa	= Heterozygot
2pq	= Heterozygotenfrequenz	aa	= Homozygot krank
$(2pq)^2 \times 4$	= Homozygotenfrequenz		

Die Gesamtzahl der ausgewerteten Proben beträgt 1171. Darunter befand sich ein Kind, das keine Gal-1-PUT -Aktivität aufwies. Hierbei handelt es sich um eine gesicherte Galaktosämie, da das Ergebnis durch wiederholte Untersuchungen und den Fluoreszenztest nach Beutler bestätigt werden konnte. Die Eltern dieses Kindes waren heterozygote Merkmalsträger.

Weiterhin wurden 6 heterozygote Merkmalsträger mit einer Enzymaktivität zwischen 5,5 und 9,9 U/g Hb (s. Tabelle VI) gefunden. 6 Probanden dürften mit einer Gal-1-PUT -Aktivität zwischen 10,4 und 11,1 U/gHb wahrscheinlich der Duarte-Variante zugerechnet werden (Tabelle VII).

Tabelle VI:

Heterozygotenwerte

Fall 1	5,5 U/g Hb
Fall 2	8,9 "
Fall 3	9,4 "
Fall 4	9,8 "
Fall 5	9,8 "
Fall 6	9,9 "

Tabelle VII:

Fragliche Duarte-Variante

Fall 1	10,4 U/g Hb
Fall 2	10,8 "
Fall 3	10,7 "
Fall 4	11,0 "
Fall 5	11,0 "
Fall 6	11,1 "

Die Frequenzberechnung wurde sodann ohne Berücksichtigung der Duarte-Variante, zum zweiten mit Berücksichtigung der Variante und schließlich allein für die Duarte-Variante durchgeführt. Die Resultate seien tabellarisch aufgeführt:

Tabelle VIII:

A. Ohne Berücksichtigung der Duarte-Variante und des Homozygoten

Genfrequenz	Heterozygotenfr.	Homozygotenfr.
0,0036	0,00715	0,000051
	1 : 140	1 : 78 400

Tabelle IX:

B. Mit Berücksichtigung der Duarte-Variante (6 Duarte,
6 Heterozygote)

Genfrequenz	Heterozygotenfr.	Homozygotenfr.
0,0060	0,0118	0,000142
	1 : 84	1 : 28 224

Tabelle X:

C. Genfrequenzen der Duarte-Variante: 0,51 % der Gesamt-
probanden

Genfrequenz	Heterozygotenfr.	Homozygotenfr.
0,0026	0,0052	0,0000266
	1 : 194	1 : 150 376

C. DISKUSSION

Die Galaktosämie ist eine autosomal rezessiv vererbte Stoffwechselkrankheit. Eine möglichst früh einsetzende Therapie, d. h. laktosefreie Ernährung, gewährleistet eine körperlich und geistig normale Entwicklung der sonst akut gefährdeten Kinder. Als diagnostisches Hilfsmittel für die Erfassung homozygoter wie auch heterozygoter Überträger dient die Messung der Aktivität der Gal-1-PUT in den Erythrozyten. Die Mittelwerte der Gal-1-PUT-Aktivität für Gesunde und Heterozygote sind hochsignifikant verschieden. Die in der Literatur angegebenen Normalwerte variieren. Ursache hierfür sind die unterschiedlichen Meßmethoden. So errechneten Hsia und Mitarbeiter mittels des UDPG-Konsumptionstestes Mittelwerte von $15,2 \pm 3,5 \mu\text{mol UDPG/hr/g Hb}$ ²⁰⁾. Sie stimmen mit den in dieser Arbeit ermittelten überein. Tolstrup errechnete dagegen Durchschnittswerte von $28,25 \pm 3,5$ ⁴³⁾, obwohl der gleiche Test angewandt wurde. Allerdings hatte der Autor die Methode modifiziert, indem er hohe Substrat- und niedrige Hämolysatkonzentrationen verwendete und gleichzeitig die Inkubationszeit veränderte.

Berücksichtigt man allerdings nur die Werte, die mit dem UDPG-Konsumptionstest ermittelt wurden, zeigt sich eine relativ geringe Streuung wie aus Tabelle XI ersichtlich wird.

Tabelle XI:

Mc. Guinness ¹⁷⁾	Beutler ⁴⁾	Inouye ²¹⁾	Hsia ²⁰⁾	Mellman ³²⁾
$19,35 \pm 4,6$	$19,2 \pm 1,0$	$19,8 \pm 5,1$	$15,2 \pm 3,5$	$17,2 \pm 1,5$

Der hier gefundene Mittelwert: $16,5 \pm 2,8$

Im Gegensatz dazu schwanken jedoch die Angaben über die Frequenz dieser Stoffwechselkrankheit sehr stark. Nach neueren Untersuchungen von Hansen, Brandt und Beutler^{18, 8, 5)} liegen die Homozygotenfrequenzen zwischen 1 : 17000, 1 : 19000 und 1 : 25000. Die Heterozygotenfrequenzen lägen demnach zwischen 1 : 50 und 1 : 80. Kaloud und Sitzmann ermittelten durch 1793 Blutuntersuchungen von Probanden aus der Steiermark und Franken Heterozygotenfrequenzen von 1 : 55 und 1 : 85²⁸⁾. Shih und Mitarbeiter nehmen dagegen an, daß die bisher angegebenen Heterozygotenfrequenzen viel zu hoch liegen. Sie entdeckten bei 374 341 Untersuchungen 2 Patienten mit Galaktosämie. Bei ihrer Untersuchungsreihe wurden allerdings die Blutproben von Neugeborenen mit dem Guthrietest untersucht. Mit diesem mikrobiologischen Hemmtest nach Guthrie werden allerdings nur die Homozygotkranken erfaßt, nicht hingegen die heterozygoten Überträger.

Die dann errechnete Heterozygotenfrequenz belief sich auf 1 : 216.

Eine vergleichende Übersicht über bisher veröffentlichte Frequenzen zeigt Tabelle XII.

Tabelle XII

	Hetero- zygoten- frequenz	Homo- zygoten- frequenz	Gen- frequenz
Steiermark (Kaloud u. Sitzmann)	1 : 55	1 : 12 100	0,0092
Franken (Kaloud u. Sitzmann)	1 : 85	1 : 28 900	0,0059
Michigan (Hansen)	1 : 67	1 : 17 000	0,0075
Kopenhagen (Brandt)	1 : 68	1 : 19 000	0,0074
Californien (Beutler)	1 : 80	1 : 25 000	0,0063
Wien (Thalhammer)	1 : 82	1 : 27 000	0,0061
Manchester (Schwarz)	1 : 134	1 : 70 000	0,0037
Massachusetts (Shih)	1 : 216	1 : 187 000	0,0023
Sheffield (Ellis)	1 : 250	1 : 250 000	0,002
Eigene Untersuchung	1 : 140	1 : 78 400	0,0059

Die eingangs gestellten Fragen, die zur Bearbeitung dieses Themas gestellt wurden, können nun folgendermaßen beantwortet werden:

- ad I : Die Homozygotenfrequenz bei den Probanden aus Torony lag mit 1 : 78 400 über der Homozygotenfrequenz in der Steiermark und derjenigen in unserem Einzugsgebiet mit 1 : 30 000.
- ad II : Auch in der sehr homogenen Bevölkerungsgruppe findet sich dieses Gen nicht häufiger als in heterogenen Bevölkerungsanteilen wie aus Tabelle XII hervorgeht. Die Vermutung, hier eine höhere Homozygotenfrequenz zu finden, wie es Untersuchungen von Bickel und Cleave⁷⁾, Berger³⁾, Kaloud und Sitzmann^{24, 26)} erwarten ließen, konnte nicht bestätigt werden. Allerdings muß bei der vorliegenden Untersuchung berücksichtigt werden, daß es sich trotz Erfassung von über 1000 Probanden doch um eine relative kleine Anzahl handelt.

Die Duarte-Variante ging nicht in die Frequenzberechnungen ein. Hierbei handelt es sich um eine 1965 von Beutler beschriebene, neue genetische Variante des Gal-1-PUT-Mangels. Nach Hascemian und Menne ist diese Form durch ein Gen determiniert, daß die Enzymaktivität so reduziert, daß ein homozygoter Träger etwa 50 % und ein heterozygoter Träger dieser Variante etwa 75 % der normalen Aktivität zeigen⁹⁾. Der Homozygote der Duarte-Variante weist demnach dieselbe Enzymaktivität wie der Heterozygote der klassischen Galaktosämie auf. Mit Hilfe der Enzymaktivitätsbestimmung der Gal-1-PUT kann man also Heterozygote der Galaktosämie nicht von Homozygoten der Duarte-Variante unterscheiden. Beutler weist deswegen mit Recht darauf hin, daß die bisher angegebenen Werte der Heterozygotenfrequenz zu hoch

liegen, weil die Duarte-Variante nicht berücksichtigt wurde. Nach Beutler liegt die Genfrequenz für diese Variante bei 7,1 %. Auch Mellman und Tedesco veranschlagten die Genfrequenz für heterozygote Merkmalsträger der Duarte-Variante auf etwa 8 % der Bevölkerung gegenüber 1 % der Heterozygoten der klassischen Galaktosämie ¹⁹⁾. Kaloud und Sitzmann errechneten nach ihren Untersuchungen in der Steiermark und in Franken eine noch höhere Duartefrequenz. 11,38 % der Gal-1-PUT -Werte aus der Steiermark und 13,44 % aus Franken konnten unter die Duarte-Träger eingereicht werden.

Der UDPG-Konsumptionstest kann für die Erfassung heterozygoter Merkmalsträger der Galaktosämie und der Festlegung der Genfrequenzen angewandt werden. Dies ist von besonderer Bedeutung für die Früherkennung der Stoffwechselerkrankung. So sollte prinzipiell beim Auftreten der Galaktosämie die gesamte Sippe untersucht werden, um die Heterozygoten zu eruieren und um somit eine entsprechende Prophylaxe betreiben zu können. Die intrauterine Entstehung von Zerebralschäden und Katarakten durch Galaktitol kann so vermieden werden. Weiterhin sollte auch bei jedem verstärkt auftretendem Neugeborenenikterus, der nicht durch eine Blutgruppeninkompatibilität verursacht wird auch eine Aktivitätsbestimmung der Gal-1-PUT durchgeführt werden, um eine eventuell notwendige diätetische Therapie möglichst frühzeitig einleiten zu können. Eine laktosefreie Kost ist neben ihrer lebensrettenden Wirkung im akuten Stadium der Erkrankung von entscheidender Bedeutung für die Verhütung von chronischen Gehirn-, Leber- und Linsenschädigungen.

D. ZUSAMMENFASSUNG

Die Galaktosämie ist eine Stoffwechselanomalie mit autosomal rezessivem Erbgang. Die an dieser Krankheit leidenden Patienten weisen, infolge eines Gal-1-PUT -Defektes, unter laktosehaltiger Nahrung Hepatosplenomegalie, Katarakte und geistige Retardierung auf. Möglichst früh einsetzende milchzuckerfreie Ernährung schützt vor diesen Komplikationen.

Das Ziel dieser Untersuchungen bestand darin, die Genfrequenz der Erkrankung in einem westungarischen Reservat mit relativ homogener Bevölkerung (Torony/Vas) festzustellen. Dazu wurden 1171 Blutproben der dortigen Bevölkerung, die zum großen Teil aus Zigeunern und Halbzigeunern bestand, untersucht. Die Aktivitätsbestimmung der Gal-1-PUT erfolgte nach dem UDPG-Konsumptionstest. Die klassische Galaktosämie zeichnet sich durch fehlende oder mangelnde Aktivität der Gal-1-PUT aus. Bei Heterozygoten findet sich eine Reduktion der Aktivität auf 50 % .

Die Resultate wurden in 5 Altersgruppen aufgeteilt. Es ergab sich keine Altersabhängigkeit des Enzyms in diesem Probandengut. Die Mittelwerte der einzelnen Klassen lagen zwischen 16,1 U und 16,8 U/g Hb und wiesen eine durchschnittliche Standardabweichung von 2,7 U/g Hb auf. Aus dem gesamten Probandengut konnten ein homozygoter Merkmalsträger und 6 heterozygote Krankheitsüberträger ermittelt werden. Die nach der Hardy Weinberg -Formel berechnete Genfrequenz beträgt ohne Berücksichtigung der Duarte-Variante 0,00359 . Die Heterozygotenfrequenz 1 : 140, die Homozygotenfrequenz 1 : 78 400. Mit Berücksichtigung der Duarte-Variante ergaben sich folgende Werte: Genfrequenz 0,00597; Heterozygotenfrequenz 1 : 84; Homozygotenfrequenz 1 : 28 224.

Die Erwartung, daß auf Grund der Homogenität der Bevölkerung aus den Untersuchungen eine höhere Genfrequenz für die Galaktosämie, durch den Gal-1-PUT-Mangel, resultieren würde, konnte nicht bestätigt werden.

LITERATURVERZEICHNIS

- 1) Anderson, E.P., H.M. Kalckar, K. Kurahashi, K.J. Isselbacher : J. Lab. clin. Med. 50, 469 (1957)
- 2) Becker, P.E., Humangenetik, Band I/1, 25 (1967), Thieme-Verlag Stuttgart
- 3) Berger, H. : La pathogenese de la galactosemie. J. Genet. Hum. 4, 7 (1955)
- 4) Beutler, E., M.C. Baluda : Improved Method for Measuring Galactose-1-Phosphat Uridyltransferase Activity of Erythrocytes. Clin. chim. Acta 13, 369 und 376 (1966)
- 5) Beutler, E., M.C. Baluda, G.N. Donnell : A new method for the detection of galactosemia and its carrier state. J. Lab. clin. Med. 64, 694 (1966)
- 6) Beutler, E., M.C. Baluda, D. Sturgeon, R.W. Day : The genetics of galactose-1-phosphat uridyltransferase deficiency. J. Lab. Clin. Med. 68, 656 (1966)
- 7) Bickel, H., H. Cleve : Metabolische Schwachsinnformen in: P.E. Becker : Humangenetik, V/2, 251 (1967). Thieme-Verlag Stuttgart.
- 8) Brandt, N.J. : Frequency of Heterozygotes for Hereditary Galactosemia in a normal Population. Acta genet. 17, 289 (1967)
- 9) Buddecke, E. : Grundriß der Biochemie, De Gruyter, 180 (1971)
- 10) Brandt, N.J. : Frequency of Heterozygotes for Hereditary Galactosemia in a normal population. Acta paediat. Scand. 58, 325 (1969)

- 11) Chacko, M.C., J.C. Christian, H.L. Nadler : Unstable galactose-1-phosphaturidyltransferase: A new variant of galactosemia. *J. Pediat.* 78, 454 (1971)
- 12) Cuatrecasas, P., S. Segal : The galactonic acid pathway: A new route for galactose metabolism in mammals. *J. clin. Invest* 45, 999 (1966)
- 13) Grüner, H.D. : Stoffwechselbedingte Schwachsinnformen und ihre Erkennung. *Z. klin. Chemie* 3, 123 (1966)
- 14) Gitzelmann, R., B. Hadorn : Zur biochemischen Genetik der Galaktosämie. *Helv. Paediat. Acta* 1, 4 (1961)
- 15) Gitzelmann, R. : Deficiency of Erythrocyte Galaktokinase in a Patient with Galaktokinase Diabetes. *Lancet* II 670 (1965)
- 16) Gitzelmann, R. : Hereditary Galaktokinase Deficiency, a newly recognized Cause of Juvenile Cataracts. *Pediat. Res.* 1, 14 (1967)
- 17) McGuiness, R., R.A. Saunders: Erythrocytic-Galactose-1-phosphat-Uridyltransferase and Glucose-6-phosphat-dehydrogenase activity in the population of Rhonda Fach *Clin. chim. Acta* 16, 221 (1967)
- 18) Hansen, R.G., Bretthauer, R.K., J. Mayes, J.H. Nordin : Estimation of Frequency of occurrence of galactosemia in the population. *Proc. Soc. exp. Med. Biol.* 115, 560 (1964)
- 19) Haschemian, G., G. Menne : Beobachtung einer Familie mit Galaktosämie und Duarte-Variante. *Humangenetik* 15, 225 (1972)

- 20) Hsia, D.Y.Y., J.A. Tannerbaum, J. Schneider, K. Huang, Simpson: Further studies on the heterozygotes carriers in galactosemia. *J. Lab. clin. Med.* 58, 368 (1960)
- 21) Inouye, T., H.L. Nadler, D.Y.Y. Hsia: Galactose-1-phosphat Uridyl Transferase in red and white blood cells. *Clin. chim. Acta* 19, 169 (1968)
- 22) Isselbacher, K.J.: Evidence for an accessory pathway of galactose metabolism. *J. Clin. Invest.* 36, 920 (1957)
- 23) Kalckar, H.M., E.P. Anderson, K.J. Isselbacher: Galactosemia; a congenital defect in a nucleotid transferase. *Biochem. Biophys. Acta* 20, 262 (1965)
- 24) Kaloud, H., F.C. Sitzmann: Ergebnisse klinischer und biochemischer Untersuchungen bei einer Sippe mit Erkrankungen an Galaktosämie. 64. Beiheft: *Arch. Kinderheilkunde*, Enke Verlag, Stuttgart (1971)
- 25) Kaloud, H., F.C. Sitzmann: Untersuchungen bei einer weiteren Sippe mit einem Erkrankungsfall an Galaktosämie. *Arch. Kinderheilk.*, 183, 225 (1971)
- 26) Kaloud, H., F.C. Sitzmann: Enzymopathien des Galaktosestoffwechsels. *Verh. Dtsch. Ges. Path.*, 387 (1971)
- 27) Kaloud, H., F.C. Sitzmann: Die Aktivität der Galaktose-1-phosphat-Uridyltransferase in den Erythrozyten bei Heterozygoten der Galaktosämie in verschiedenen Altersstufen. *Pädiat. u. Pädolog.* 6, 271 (1971)
- 28) Kaloud, H., F.C. Sitzmann: Genfrequenz der hereditären Galaktosämie unter Berücksichtigung der Duarte-Variante. *Z. Kinderheilk.*, 113, 207 (1972).

- 29) Kelly, S., S. Katz, J. Burno, J. Baylan : Screening for Galactosemia in New York State. Public Health Reports, 85, 575 (1970)
- 30) Kraus, H., E. Mönch: Enzymatische Methoden zur Diagnose der Galaktosämie und des Galaktokinase mangels. Klin. Woch. 7, 437 (1970)
- 31) Kurahashi, K., A. Sugimura: Purification and Properties of galactose-1-phosphat uridyltransferase from *Escherichia coli*. J. Biol. Chem. 235, 940 (1960)
- 32) Mellman, W.J., T.A. Tedesco, P. Feigl: Estimation of the gene frequency of the Duarte Variante of Galactose-1-phosphat-uridyltransferase. Ann. Hum. Genet. 31, 1 (1968)
- 33) Nelson, K., D.Y.Y. Hsia: Screening for galactosemia and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in newborns infants. J. Pediat. 71, 582 (1967)
- 34) Orlia, A.R., A.H. Josephson: Comparativ variability of blood stored in ACD and CPD. Transfusion 9 62 (1966)
- 35) Quan-Ma, R., W.W. Wells: The distribution of galactitol in tissues of rats fed galactose. Biochem. Biophys. Res. Commun 20, 486 (1965)
- 36) Reuss, A. von: Zuckerausscheidung im Säuglingsalter. Wien. med. Wschr. 58, 799 (1910)
- 37) Richterich, R.: Klin. Chemie. Akademische Verlagsges. Frankfurt/M. (1966)
- 38) Schwartz, V., A.R. Wells, A. Holzel, G.M. Komrover: Ann. hum. Genet. 25, 179 (1968)

- 39) Segal, S., A. Blair, Y.J. Topper: Oxidation of carbon-14 labeled galactose by subjects with congenital galactosemia. *Science* 136, 150 (1962)
- 40) Segal, S., H. Bernstein: Observations of cataract formation in the newborn of Spring of rats fed a high-galactose diet. *J. Pediatr. (St.Louis)* 62, 363 (1963)
- 41) Shih, V.E., H.J. Levy, V. Karolkewicz, S. Houghton, M.L. Efron, K.J. Isselbacher, E. Beutler, R.A. McCready: Galactosemia screening of newborns in Massachusetts *New Engl., J. Med.* 284, 753 (1971)
- 42) Sitzmann, F.C.: Unsere heutigen Kenntnisse über die Galaktosämie. *Med. Klin. J.* 63, 781 (1968)
- 43) Tolstrup, N.: Hereditær Galaktosemie. Thesis. Copenhagen, Arne (1965)

Mein aufrichtiger und
herzlicher Dank gilt
Herrn Prof. Dr. F.C.
Sitzmann für seine
freundliche Unterstützung

LEBENS LAUF

Am 28. September 1952 wurde ich, Jochen Hans Eggert, als Sohn des Industriekaufmanns Heribert Eggert und seiner Ehefrau Carola, geborene Gattner, in Lichtenfels geboren.

1958 trat ich in die Volksschule Lichtenfels ein und wechselte nach 4 Jahren in das Meraniergymnasium Lichtenfels über und besuchte diese Schule bis zum Abitur.

Vom Wintersemester 1972 an studierte ich Zahnmedizin und Medizin an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg. Die zahnärztliche Prüfung bestand ich im Dezember 1976 und stehe nun vor dem Abschluß des Studiums der Medizin.

Erlangen, im Dezember 1976

Jochen Hans Eggert

Copy - Center 2000
852 ERLANGEN · Obere Karlstr. 30
Tel. 09131 - 26197